RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali
Comunicazioni pervenute all'Accademia durante le ferie del 1913.
Estratto dal vol. XXII, serie 5ª, 2° sem., fasc. 7°. — Roma ottobre 1913.

15

PROPRIETÀ CHIMICHE E CHIMICO-FISICHE

DEL

SUCCO DI MUSCOLI STRIATI E LISCI

III.

VARIAZIONI DI VOLUME IN ALCUNI PROCESSI COLLOIDALI

NOTA

DEL CORRISP.

F. BOTTAZZI e del dott. E. D'AGOSTINO

ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI
1913

Chimica fisica. — *Proprietà chimiche e chimico-fisiche del succo di muscoli striati e lisci.* III. *Variazioni di volume in alcuni processi colloidali* [1]. Nota del Corrisp. F. Bottazzi e del dott. E. D'Agostino [2].

H. Quincke [3] fu il primo ad osservare: « ... dass die Verbindung, welche ein in Wasser quellender Körper mit diesem eingeht, von einer Contraction begleitet ist, so dass das Gesammtvolumen beider nach der Quellung ein geringeres als vor derselben ist ». Egli sperimentò su materiali diversi: chiara d'ovo cotta, cartilagini costali di bambino e di vitello, tendini, ecc., gelatina secca, gomma arabica; e si servì del metodo dilatometrico (usando un dilatometro di costruzione assai semplice, anzi, primitiva), controllando poi i risultati col metodo del peso specifico. Più tardi, con ricerche più rigorose, E. Wiedemann e Ch. Lüdeking [4] confermarono il fatto, che nel processo d'imbibizione dei colloidi secchi ha luogo diminuzione di volume del sistema, cioè contrazione.

Ricerche dilatometriche più recenti sono quelle del Galeotti e del Gayda.

G. Galeotti [5] ha osservato che nella coagulazione termica ed enzimatica delle proteine non avviene variazione di volume, mentre nella precipitazione di esse provocata con acidi o con sali avviene aumento di volume (variabile dal 0,254 al 2,217 $^0/_{00}$), che è più cospicuo quando la precipitazione è reversibile (per es., quando è prodotta dal solfato d'ammonio).

Finalmente T. Gayda [6] ha trovato, in primo luogo, contrariamente al Galeotti, che nella coagulazione termica si può constatare un acceleramento dell'aumento di volume, durante il progressivo elevarsi della temperatura, già sotto la temperatura di coagulazione e durante tutto il tempo di formazione del coagulo: in altre parole, un aumento di volume del sistema; e, in secondo luogo, contrazione nel processo di soluzione dell'albumina secca, mentre l'ulteriore diluzione della stessa soluzione è accompagnata da piccolissima diminuzione di volume.

Le nostre ricerche sono state fatte su gelatina secca in filamenti sottili (della Casa Nelson, « marca d'oro »), e su miosina pura allo stato granulare,

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di fisiologia di Napoli.
(2) Pervenuta all'Accademia il 25 agosto 1913.
(3) Pflüger's Arch., 3, pag. 332, an. 1870.
(4) Wiedemann's Ann., N. F.,25, pag. 145.
(5) Zeit. f. physiol. Chem., 78, pag. 421, an. 1912.
(6) Bioch. Zeit., 39, pag. 100, an. 1912.

secca o già al massimo grado imbevuta di acqua distillata [1]. Le ricerche su gelatina furono fatte al fine di provare il dilatometro da noi usato, che si vede rappresentato nella fig. 1, immerso (la figura ne mostra due eguali) nel termostato, l'acqua del quale era tenuta in continuo rimescolamento per mezzo di un agitatore a palette (non lo si vede nella figura, perchè si trova

Fig. 1.

al fondo dell'alto termostato), mosso dall'elettricità. Un termometro Bodin, su cui poteva leggersi comodamente con una lente d'ingrandimento il centesimo di grado, c'indicava la temperatura.

Come si vede, il dilatometro è costituito di un capillare portante una scala in millimetri, del diametro di 1 mm. e lungo circa 80 cm., e di due branche assai larghe, portanti anche una scala in millimetri e chiuse inferiormente da due rubinetti smerigliati a perfetta tenuta.

[1] Circa il modo in cui questa miosina granulare fu ottenuta, ved. Bottazzi e Quagliariello, Rend. R. Accad. d. Lincei (5), vol. 22°, pag. 52, an. 1913.

Il riempimento del dilatometro era fatto in modo diverso, secondo che si trattava di ricerche sulla gelatina e sulla miosina granulare secche, ovvero su questa miosina granulare già sospesa in acqua.

Per quanto riguarda la gelatina e la miosina granulare secche, determinammo la variazione di volume nel processo di semplice imbibizione in acqua. Sulle sospensioni di miosina sperimentammo l'influenza di acidi (acido cloridrico e acido sarcolattico) e di basi (KOH) a concentrazioni diverse.

Dopo molti tentativi e molte ricerche preliminari, di cui crediamo superfluo riferire i singoli resultati, trovammo preferibili i seguenti procedimenti tecnici per l'esecuzione dei varii esperimenti:

1. *Miosina granulare secca.* — L'imbibizione in acqua di questo materiale essendo assai lenta, si può benissimo procedere nel seguente modo. Riscaldate alla temperatura del termostato separatamente la polvere secca e l'acqua (già privata dell'aria mediante bollitura e successiva conservazione sotto la campana di una macchina pneumatica in cui di tanto in tanto si tornava a fare il vuoto), s'introduceva pazientemente la polvere in una delle branche del dilatometro, e quindi lo si riempiva di acqua fino ad una altezza conveniente del capillare, aspirandola per l'altra branca. Chiusi i rubinetti, già unti con « Vacuumfett » di Kahlbaum, e asciugate con carta bibula le estremità inferiori delle due branche, queste erano abbondantemente paraffinate con paraffina ad alto punto di fusione.

Connesso il dilatometro per l'estremità superiore del capillare con la pompa, mediante un tubo di caoutchouc a pareti spesse, vi si faceva il vuoto, finchè l'acqua bollisse alla temperatura dell'ambiente. Ogni traccia d'aria era così espulsa dall'interno dell'apparecchio. Il dilatometro era quindi immerso nel termostato, e s'incominciava a fare la lettura del volume del liquido e della temperatura, a intervalli convenienti.

2. *Gelatina.* — Assai diversamente dovemmo procedere negli esperimenti sulla gelatina, perchè in questo caso la variazione del volume s'inizia visibilmente subito, e decorre assai rapidamente. Sospeso nel termostato un alto vaso cilindrico pieno di acqua distillata già privata dell'aria, vi s'immergeva il dilatometro, in una branca del quale era stata già introdotta la gelatina in fili sminuzzati, un rubinetto essendo già paraffinato, l'altro perfettamente chiuso dopo essere stato convenientemente ingrassato. Raggiunto l'equilibrio termico, si apriva il rubinetto non paraffinato e si lasciava entrare l'acqua, tanto che riempisse le due branche e salisse fino ad un'altezza conveniente nel capillare, mentre con la pompa, connessa all'estremità libera del capillare, dal dilatometro veniva espulsa l'aria.

Immediatamente s'incominciava la lettura del volume, facendo così che mentre uno di noi indicava con un contasecondi il momento della lettura, l'altro leggeva sulla scala del capillare la posizione del menisco, e un assistente scriveva i valori letti.

3. *Sospensione granulare di miosina pura.* — Nelle prime prove, aspirata la sospensione in una branca, fino a metà o due terzi dell'altezza, e la soluzione di acido o di KOH nell'altra, anche fino ad una certa altezza, si riempiva poi il dilatometro con toluolo, aspirandolo per la seconda branca. (Chiusura e paraffinatura dei rubinetti, espulsione dell'aria dai liquidi, ecc., come nei casi precedenti). Ma presto rinunziammo a servirci del toluolo. Avendo constatato che anche in questi esperimenti la variazione di volume è piuttosto lenta, riempimmo della soluzione il dilatometro, dopo avere introdotto in una delle sue branche la sospensione di miosina, e subito, rimescolato insieme il contenuto delle due branche, in guisa che il materiale granulare sospeso si ripartisse in quantità presso che eguale nelle medesime, e introdotto il dilatometro nel termostato, incominciammo la lettura sul capillare e sul termometro.

I risultati delle nostre ricerche possono essere riassunti brevemente nel seguente modo:

1. *Imbibizione della gelatina.* — Riferiamo i valori di due sole esperienze nella seguente tabella I e nelle due curve della fig. 2. I valori sono corretti per la temperatura media di 21°,6; C, avendo determinato, in questi come negli altri esperimenti, il coefficiente termico di dilatazione lineare dei nostri dilatometri.

TABELLA I.

1ª ESPERIENZA. Gr. 3,6 gelatina in 46,7 cmc. H_2O Temperatura: da 21°,8 e 21°,9C.		2ª ESPERIENZA. Gr. 2,7 gelatina in cm. 46,7 H_2O NB. Tutti i dati sono corretti alla temperatura media di 21°,6 C.	
Tempo dell'osservazione	Lettura del dilatometro	Tempo dell'osservazione	Lettura del dilatometro
zero	15	zero	—
24″	12, 9	0′ 40″	40, 0
27	12, 5	1 0	38, 0
35	12, 0	» 9	37, 5
42	11, 0	» 18	37, 0
50	10, 5	» 29	36, 5
58	10, 0	» 41	36, 0
1′ 8	9, 5	» 55	35, 5
» 18	9, 0	2′ 11	35, 0
» 30	8, 5	» 28	34, 5
» 43	8, 0	» 49	34, 0
» 58	7, 5	3′ 17	33, 5
2′ 15	7, 0	» 52	32, 9
» 37	6, 5	4′ 0	32, 8
» 53	6, 2	» 9	32, 7
3′ 3	6, 0	» 19	32, 9
» 18	5, 8	» 30	32, 5
» 28	5, 6	» 41	32, 4
» 41	5, 4	» 53	32, 3
4′ 0	5, 2	5′ 8	32, 2
» 18	5, 0	» 23	32, 1
» 44	4, 8	» 42	32, 0
5′ 9	4, 6	6′ 0	31, 9
» 45	4, 4	11 0	31, 0
6′ 37	4,25	12 15	30, 9
10 40	3, 8	13 40	30, 8
14 40	3, 6	16 20	30,65
22 0	3, 4	20 30	30, 4
		23 10	30, 3
		28 10	30,15
		50 30	29,71
		62 30	29,51
		79 0	29,35
		95 0	29,23
		360 0	27,18
		2922 0	17,94

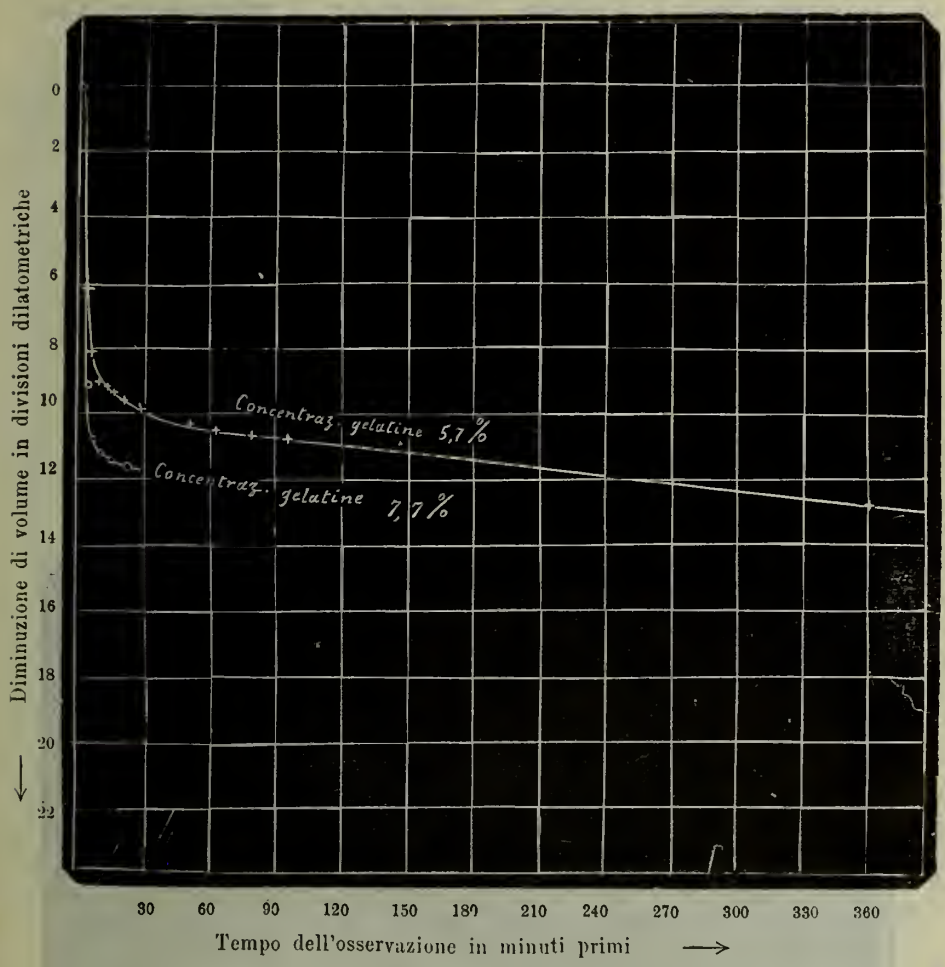

Fig. 2.

Come si vede, *nell'imbibizione della gelatina secca ha luogo contrazione del volume, la quale dapprima procede rapidissimamente, e poi lentamente.*

2. *Imbibizione della miosina granulare secca.* — L'esperimento, di cui riferiamo i risultati nella tabella II e nella fig. 3, fu fatto con gr. 6,9 di materiale secco polverizzato e gr. 45,9 di acqua. I valori sono stati corretti per la temperatura media di 31°,5 C.

TABELLA II.

Tempo dell'osservazione	Lettura al dilatometro	Tempo dell'osservazione	Lettura al dilatometro
zero	19,37	68h 44′	17,11
59′	19,27	71 44	17,06
1h 1	19,24	73 14	17,06
» 39	19,14	115 44	16,65
2 4	19,05	123 44	16,56
» 31	18,99	142 14	16,43
» 45	18,96	217 14	15,97
3 46	18,81		
17 54	17,90		
19 29	17,84		
20 44	17,83		
24 4	17,74		
26 14	17,66		
28 59	17,67		
43 14	17,41		
44 44	17,39		
45 44	17,36		
47 44	17,35		
52 14	17,28		
66 14	17,13		

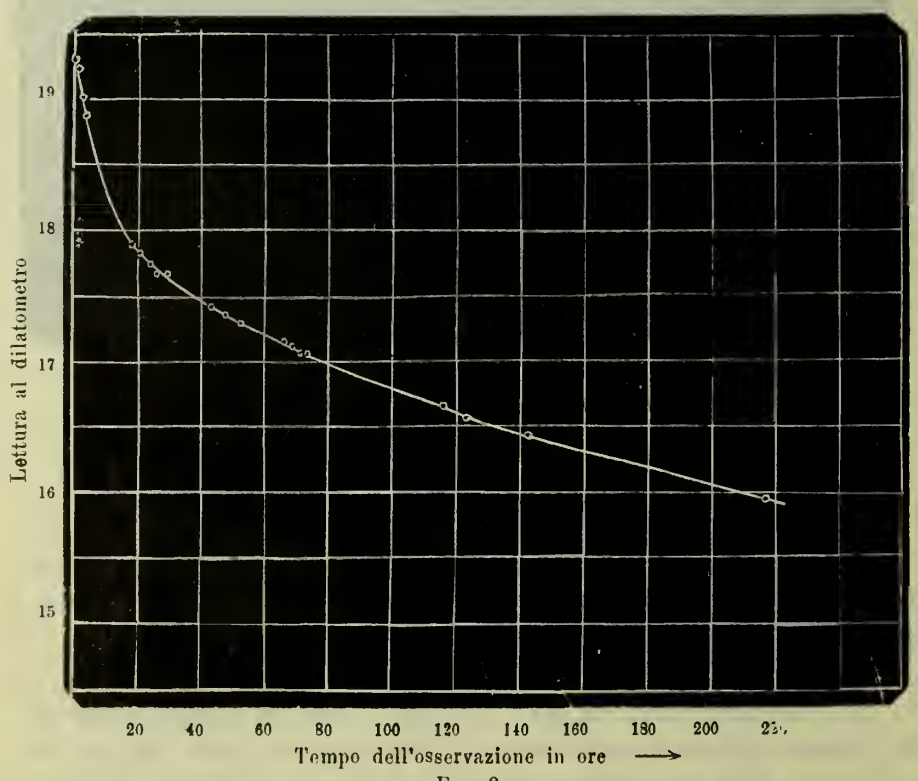

FIG. 3.

Anche *nell'imbibizione acquosa della miosina pura secca polverizzata ha luogo contrazione del volume, che però procede assai più lentamente che nel caso della gelatina.*

3. *Imbibizione della miosina granulare pura, già al massimo grado imbevuta d'acqua, in soluzioni di acidi e di basi.* — Riferiamo quattro degli esperimenti fatti: tre riguardano soluzioni variamente concentrate di acido lattico; uno la soluzione 0,5 *n* KOH. I dati furono tutti corretti per le temperature rispettivamente di 30°,8 e di 31°,200 C. Essi sono contenuti nella tabella III, e sono serviti per la costruzione delle curve della fig. 4.

TABELLA III.

1ª ESPERIENZA. Tutti i dati sono stati corretti per la temp. 30°,8 C.			2ª ESPERIENZA. Tutti i dati sono stati corretti per la temp. 31°,200 C.		
Tempo dell'osservazione in ore (al tempo zero si sono rimescolati i liquidi).	Lettura al dilatometro: soluzione 1/5 norm. acido lattico.	Lettura al dilatometro: soluz. 1/10 norm. acido lattico.	Tempo dell'osservazione in ore (al tempo zero si sono rimescolati i liquidi).	Lettura al dilatometro: soluzione 1/2 *n* KOH	Lettura al dilatometro: soluzione 1/2 *n* acido lattico.
zero	20,7	16,05	zero	33,02	32,03
1h 75′	19,95	15,45	0h 75′	33,19	31,03
2 00	19,95	15,45	2 33	33,33	30,91
2 85	19,85	15,40	2 83	33,21	30,86
2 50	19,85	15,35	3 17	33,27	30,87
5 50	19,65	15,05	4 75	33,44	30,84
16 25	19,30	14,65	7 33	33,52	30,72
17 70	19,30	14,60	23 25	34,00	30,40
18 50	19,30	14,55	26 25	34,10	30,38
20 20	19,25	14,45	48 33	34,49	30,32
21 25	19,15	14,35	52 00	34,56	30,32
40 5	19,40	14,60	54 17	34,55	30,30
50 0	19,40	14,60	70 0	34,64	30,18
57 0	19,30	14,55	73 5	34,66	30,19
65 0	19,40	14,60	118 33	34,67	29,87
67 25	19,45	14,75			
69 25	19,35	14,60			
71 5	19,40	14,60			
73 5	19,15	14,45			
75 5	19,20	14,45			
79 5	19,10	14,30			
89 0	19,25	14,50			
90 5	19,20	14,50			

I resultati di questi esperimenti meritano un più ampio comento.

In primo luogo è da tener presente che qui non si tratta di imbibizione di un colloide secco, ma di variazione del grado di imbibizione, già raggiunto dal colloide per essere rimasto sospeso in acqua in forma di granuli per parecchi giorni, sotto l'influenza di acidi (abbiamo anche sperimentato l'acido cloridrico) e della KOH.

In generale, gli acidi e le basi fanno aumentare l'imbibizione dei colloidi; e poichè l'imbibizione acquosa per sè stessa è accompagnata da contrazione, si comprende che *sotto l'influenza degli acidi* (anche dell'acido cloridrico a piccola concentrazione) *la sospensione granulare di miosina presenta*,

come dimostrano le curve discendenti della fig. 4, *una diminuzione di volume, che decorre prima con notevole velocità, e poi sempre più lentamente, e che è maggiore per le soluzioni più concentrate di acido lattico.*

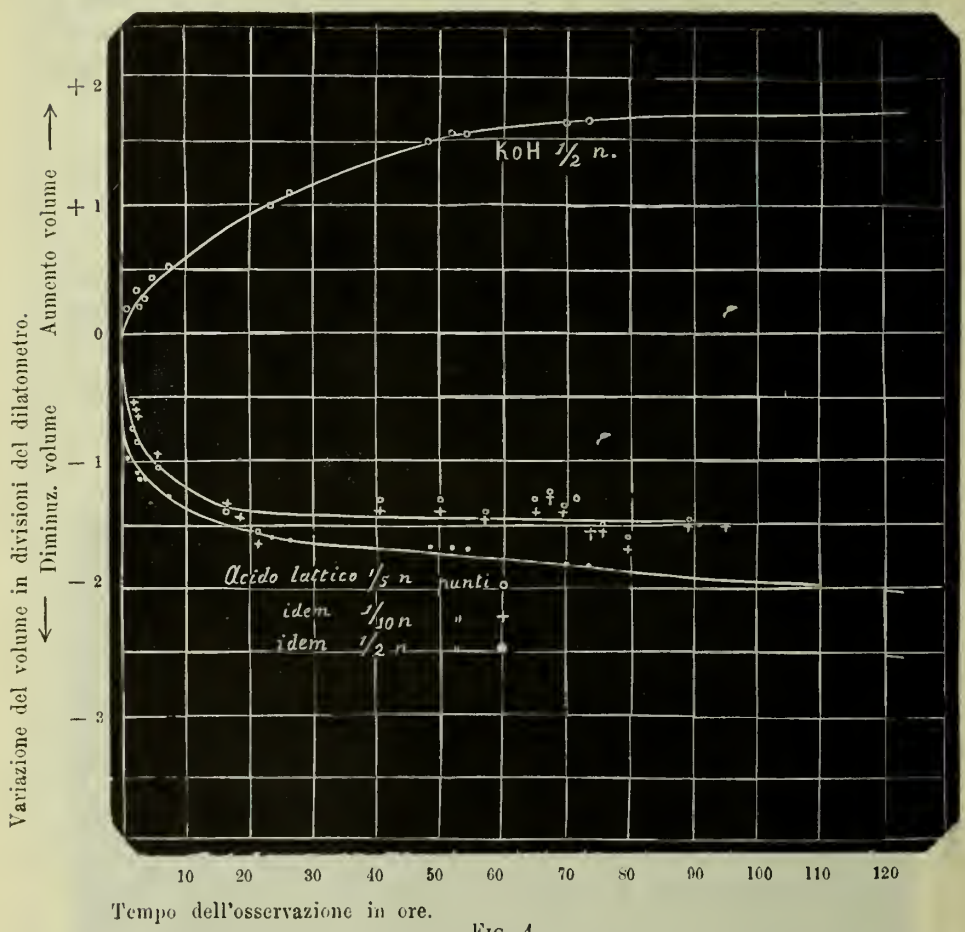

Fig. 4.

Ma gli alcali accrescono anche più degli acidi il potere d'imbibizione dei colloidi. Perchè, dunque, *sotto l'influenza della* KOH *il sistema subisce, come mostra la curva ascendente della fig. 4, un aumento di volume?* (Tutti gli esperimenti, fatti con soluzioni variamente concentrate di KOH, hanno dato lo stesso resultato; e spesso abbiamo veduto, in due esperimenti simultanei, fatti uno con acido e l'altro con KOH, in un dilatometro il liquido diminuire e nell'altro compagno aumentare di volume).

L'ipotesi che noi facciamo, a questo proposito, è la seguente: Quando una proteina (gelatina, miosina) si trova in presenza di una soluzione acquosa di acidi o di basi (in assenza di sali), si svolgono contemporaneamente tre

processi: imbibizione del colloide, soluzione di esso se si tratta di un colloide illimitatamente rigonfiabile, salificazione della proteina per cui si forma un proteinato di potassio ovvero un cloridrato o lattato di proteina. L'imbibizione e la soluzione della proteina sono accompagnate da contrazione del sistema; la formazione del sale di proteina, invece, è accompagnata, come generalmente avviene quando acidi e basi reagiscono formando i rispettivi sali [1], o quando si svolgono processi enzimatici con liberazione di molecole d'acqua [2], da aumento di volume. Secondo che l'uno o l'altro processo prevale, si ha, come resultato dell'esperimento, contrazione o dilatazione del sistema.

Nel caso nostro, gli acidi non determinano notevole salificazione e soluzione della miosina; il processo d'imbibizione prevale, e si ha diminuzione del volume. Per contro, la KOH, oltre che intensificare l'imbibizione della proteina, ne scioglie grande quantità, come abbiamo potuto ripetutamente rilevare, specialmente quando agisce in forte concentrazione, e forma con essa nel tempo stesso il rispettivo sale (come resulta da ricerche su altre proteine, fatte da numerosi sperimentatori). Non è da meravigliare, quindi, se prevalendo sugli altri due il processo di salificazione con liberazione di acqua:

$$\begin{array}{l} R-NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + KOH = \begin{array}{l} R-NH_2 \\ | \\ COOK \end{array} + H_2O\,,$$

il sistema presenta aumento del volume.

Si noti che, al momento in cui il contenuto delle due branche del dilatometro viene mescolato, si svolge un quarto processo, cioè la diluzione dell'acido o dell'alcali nell'acqua di sospensione della miosina. Questo processo è anche accompagnato da contrazione, che, nel caso dell'acido lattico, per quanto piccola essa sia, si addiziona a quella che produce il processo d'imbibizione; mentre, nel caso della KOH, è anch'essa mascherata dalla dilatazione sopra detta.

Una teoria recente della contrazione muscolare [3] prende le mosse dall'imbibizione che dovrebbe produrre nelle miofibrille striate [fatte, secondo Bottazzi e Quagliariello [4], dello stesso materiale proteico sul quale noi abbiamo sperimentato] l'acido lattico formantesi nei muscoli eccitati. Se e come i resultati da noi ottenuti possano accordarsi con la detta teoria, sarà discusso in un'altra pubblicazione.

(1) Ved. W. Ostwald, Lehrb. d. Allg. Chem., Bd. I: Stöchiometrie., pp. 787 e segg. 2te Aufl. Leipzig, 1903.

(2) G. Galeotti, Zeit. f. physiol. Chem. 76, 1, 1912.

(3) W. Pauli, Kolloidchemie der Muskelkontraktion. Dresden und Leipzig, 1912.

(4) Questi Rendiconti (5a) 21, 2° sem., fasc. 8°, pag. 493, 1912.